Ueber die Wirkung photodynamischer (fluorescierender) Stoffe auf Fadenpilze.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Ludwig Essinger

approb. Arzt aus Heilbronn.

München 1905.

Kgl. Hofbuchdruckerei Kastner & Callwey.

Ueber die Wirkung photodynamischer (fluorescierender) Stoffe auf Fadenpilze.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Ludwig Essinger

approb. Arzt aus Heilbronn.

ACAD. LUDW. MAT. BIBL.

München 1905.

Kgl. Hofbuchdruckerei Kastner & Callwey.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität München.

Referent:

Herr Professor Dr. von Tappeiner.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit.

Bei Untersuchungen über die untere Grenze der Giftwirkung von Acridinlösungen auf Paramaecien, welche Raab im Winter 1899/1900 auf v. Tappeiners Veranlassung anstellte, zeigte sich, dass die Versuche an verschiedenen Tagen zu verschiedenen Resultaten führten. Die Vermutung, dass es sich hiebei um Einwirkungen des wechselnden Tageslichts handele, wurde hierauf durch die Beobachtung bestätigt, dass die Infusorien in Acridinlösungen von gleicher Konzentration im Sonnenlichte rascher zugrunde gingen als im diffusen Tageslicht und in diesem wiederum rascher als im Dunkeln. Da bei den Versuchen alle in Betracht kommenden Schädlichkeiten, wie Wärmeentwicklung oder Verdunstung ausgeschaltet waren, so konnte es sich nur um eine bisher nicht gekannte Lichtwirkung handeln, welche v. Tappeiner mit dem Namen photodynamische Erscheinung belegte.

Das Acridin besitzt nun in seiner Lösung eine hervorragende optische Eigenschaft, nämlich die Fluorescenz, d. h. die Fähigkeit, einen Teil der absorbierten Strahlen als Licht anderer Brechbarkeit wieder auszusenden. Diese Eigenschaft wurde zum Ausgangspunkt weiterer Untersuchungen gemacht, wobei sich ergab, dass zahlreiche

andere fluorescierende Stoffe ebenfalls die beobachtete photodynamische Wirkung entfalteten. Dass die Erscheinung nicht auf blosser Absorption beruht, lehrten völlig negativ ausgefallene Versuche mit nicht fluorescierenden Stoffen, welche jeweils annähernd dieselben Lichtstrahlen absorbieren wie fluorescierende, und deren Giftigkeit oder Färbevermögen als ein Beweis dafür angesehen werden konnte, dass die Substanz von den Zellen aufgenommen wird.

Es waren also zwei Bedingungen für einen positiven Ausfall unerlässlich: erstens die Anwesenheit einer gelösten fluorescierenden Substanz; zweitens Licht in Form von Sonnen- oder diffusem Tageslicht, oder aber, wie man aus Versuchen ersah, bei denen alle anderen Strahlen abfiltriert wurden, nur in Form der die Fluorescenz erzeugenden Strahlen, und zwar müssen gerade diese immer hinzutreten; denn, werden sie vom diffusen Tageslicht abfiltriert, so bleibt die Wirkung aus. Aber nicht in dem ausgesandten Fluorescenzlicht liegt das wirksame Moment, sondern es ist in der beim Zustandekommen der Fluorescenz selbst vor sich gehenden Umwandlung der absorbierten strahlenden Energie in chemische zu erblicken. Dieser durch Experimente begründete Satz wird auch durch die interessante Beobachtung bestätigt, dass in einer Guppe chemisch verwandter fluorescierenden Stoffe in der Regel die photodynamische Wirkung um so grösser ist, je geringer die Fluorescenzhelligkeit, sofern diese nicht unter ein bestimmtes Minimum fällt.

Als dritte Vorbedingung endlich zum Eintritt der photodynamischen Wirkung wurde (vgl. die Veröffentlichungen von Ledoux-Lebard, Straub, v. Tappeiner und Jodlbauer, Edlefsen) die Anwesenheit von Sauerstoff erkannt.

Die verschiedenen Erklärungsversuche der Photodynamie, wie die Annahme einer chemischen Zersetzung der photodynamischen Substanz oder Erhöhung ihrer Giftigkeit hielten einer strengen Kritik nicht stand; auch die Vermutung, dass es sich um einen mit der in der Photographie angewandten Sensibilisierung identischen Prozess handelte, erwies sich als nicht zutreffend, sofern die besten nichtfluorescierenden Sensibilisatoren keine Spur von photodynamischer Wirkung zeigten.

So trägt denn unsere Kenntnis der Photodynamie bislang rein empirischen Charakter; durch die Erkenntnis der Bedeutung des Sauerstoffs allerdings dürfte der erste Schritt getan sein, den Vorgang unserem Verständnis näher zu bringen.

Den Untersuchungen Raabs folgten die Jakobsons, welcher auf v. Tappeiners Veranlassung die Wirkung fluorescierender Substanzen auf höher differenzierte Zellen, nämlich Flimmerepithelien, mit positivem Erfolge untersuchte. Ausserdem stellt Jakobson fest, dass sich die photodynamische Wirkung auch durch tierisches Gewebe hindurch erstreckt; so wurden Paramäcien durch die Schädeldecke eines frisch getöteten Frosches hindurch zum Absterben gebracht. Auch durch die Haut eines Meerschwein-

chens hindurch wurden solche in einem mit fluorescirender Flüssigkeit gefüllten Glasröhrchen getötet (Raab).

Schon damals machte v. Tappeiner auf die Möglichkeit einer therapeutischen Verwertung dieser Entdeckung bei infektiösen Hauterkrankungen aufmerksam, und die Erfolge, welche er später im Verein mit Jesionek durch diese neue Behandlungsweise erzielte, bestätigten seine Erwartungen in vollem Umfange. Hier mag erwähnt werden, dass Lichtstrahlen um so tiefer in tierisches Gewebe einzudringen vermögen, von je geringerer Brechbarkeit sie sind, so dass also praktisch solche fluoreszierende Stoffe anzuwenden sind, welche im Anfangsteil des sichtbaren Spektrums absorbieren.

Im weiteren Verlauf ihrer Untersuchungen erkannten v. Tappeiner und Jodlbauer die Schädigung von Fermenten, Toxinen und Agglutininen durch photodynamische Stoffe. Toxine wurden sogar im Tierkörper in ihrer Wirkung gehemmt durch Injektion von geringen Mengen fluorescirender Substanz, wobei die photodynamische Wirkung offenbar in den Hautkapillaren zustande kommt.

Lichtwitz wies nach, dass photodynamische Stoffe imstande sind, haemolytisches Blutserum dieser seiner Fähigkeit zu berauben oder sie doch zu vermindern, und zwar handelt es sich hier um eine Zerstörung der Komplemente des Serums, während die Alexine ganz oder doch zum grössten Teile intakt bleiben. Durch Zusatz eines Tropfens

normalen, an sich nicht haemolytischen Serums gelingt es nämlich, das inaktivierte Serum zu reaktivieren.

Sacharoff und Sachs, sowie Pfeiffer endlich zeigten die haematolytische Fähigkeit photodynamischer Substanzen.

Praktisch von grösster Bedeutung wegen der therapeutischen Wichtigkeit ist die Beeinflussung der Mikroorganismen durch fluorescierende Stoffe.

Raab machte Versuche mit Bacillus pyocyaneus und fand Abtötung der Bazillen durch salzsaures Harmalin in tausendfacher Verdünnung; Chinolinrot 1 : 200 und Chinin 1 : 500 bewirkten nur eine Hemmung.

G. Dreyer untersuchte die Wirkung von Erythrosin auf Bacillus prodigiosus im Finsens Konzentrationsapparat. Während nun Infusorien bei Bestrahlung mit diesem Apparat bei Zusatz von Erythrosin in 10 Sekunden, ohne diesen Zusatz aber erst nach 9 Minuten getötet wurden, waren die Abtötungszeiten bei Anstellung des Versuchs mit Bac. prodig. genau die gleichen, so dass also hierdurch kein entscheidendes Resultat erzielt wurde, so wenig wie durch eine zweite Versuchsanordnung, in welcher D. vermittelst eines Quarzprismas ein Spektrum einer 26 Ampère-Lampe auf Plattenkulturen von Bac. prodig. mit und ohne Zusatz von Erythrosin eine halbe Stunde lang einwirken liess. Nach zweitägiger Beobachtung fand er in der Kultur ohne Zusatz Abtötung im Ultraviolett, in der Kultur mit Zusatz Abtötung im Ultraviolett und Gelborange, während man hier, der

Absorption des Erythrosin entsprechend, Tötung im Ultraviolett und Grün erwarten musste.

Führten diese Versuche zu keinem entscheidenden Resultate, so waren die Untersuchungen v. Tappeiners und Jodlbauers von besserem Erfolge begleitet. Unter Hinweis auf die bei höchst konzentriertem Licht auftretenden Fehlerquellen, vor allem die bei Anwendung absorbierender Stoffe nicht zu vermeidende Wärmeentwicklung, führten die beiden Autoren ihre Versuche, wie alle früheren, im diffusen Tageslicht aus. Die Untersuchungen erstreckten sich auf Bacterium acidi lactici, Bacillus prodigiosus und Proteus vulgaris. Die angewandten photodynamischen Substanzen entsprachen sich in ihrer Wirkung jeweils bei den drei untersuchten Objekten, und zwar hatten am stärksten gewirkt Rose bengale, Phenosafranin und Methylenblau, durch welche Stoffe schon nach 1—2 Tagen Tötung erzielt war; hierauf folgte Erythrosin, welches nach 2—4 Tagen tötete. Eosin dagegen wirkte nur sehr schwach: Prodigiosus wurde durch eine 0,2%ige Lösung in 5—7 Tagen getötet. Gar keine Wirkung zeigte das dichloranthracendisulfosaure Na, welches auf Infusorien, Fermente und Toxine sehr stark photodynamisch wirkt. Als Ursache für die Unwirksamkeit dieser Substanz wurde die Vermutung ausgesprochen, dass das verschiedene Vermögen dieser Stoffe, in den Bakterienleib einzudringen, der ausschlaggebende Faktor sei. Im übrigen wurde hervorgehoben, dass sämtliche angewandten Stoffe auf Bakterien eine viel geringere

photodynamische Wirkung ausüben als auf Paramaecien.

Schliesslich machten die beiden Autoren noch darauf aufmerksam, dass auch die von Bakterien selbst produzierten fluorescierenden Stoffe starke Photodynamie entfalten. So gingen Paramaecien in einer schwach fluorescierenden Bouillonkultur von Bac. pyocyaneus im zerstreuten Tageslicht innerhalb einer Stunde zugrunde, während sie im dunklen noch nach 24 Stunden grösstenteils am Leben waren.

Ueber pathogene Bakterien liegt bis jetzt nur ein Bericht aus dem Laboratorium von Marmorek vor; danach wird der Tuberkelbacillus durch Eosin bei 24stündiger Exposition getötet.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit nun ist es, den Einfluss fluorescierender Stoffe auf Fadenpilze zu prüfen, und zwar wurde je ein Vertreter der pathogenen und der nichtpathogenen Gruppe gewählt. Als nichtpathogener Pilz wurde Penicillium glaucum, der verbreitetste unter den Schimmelpilzen, als pathogener Achorion Schönleinii, der Erreger des Favus, untersucht.

I. **Penicillium glaucum.**

Erste Versuchsreihe.

In 16 dünnwandige Reagenzgläschen wurden je 10 ccm verdünnter Bierwürze gegeben (1 Teil Bierwürze auf 5 Teile physiologischer Kochsalz-

lösung) und dann 7 Paare je mit einer anderen Lösung von fluorescierenden Stoffen versehen. Diese Lösungen wurden in einer solchen Konzentration hergestellt, dass überall 0,2 ccm erforderlich waren, um in der Bierwürze die gewünschten nachgenannten Verdünnungen zu bewirken:

Methylenblau, Phenosafranin } 0,001 %ig (0,2 cbcm einer 0,05 %igen Lösung)

Eosin, Erythrosin, Rose bengale, Dichloranthracen disulfosaures Na } 0,05 %ig (0,2 cbcm einer 2,5 %igen Lösung)

Acridinchlorid 0,002 %ig (0,2 cbcm einer 0,1 %igen Lösung).

Als Richtschnur für die Wahl der Konzentrationen dienten die bei den Bakterien gewonnenen Ergebnisse.

Den beiden restierenden Röhrchen wurden je 0,2 ccm destillierten Wassers hinzugefügt. Nun wurden sämtliche Röhrchen, mit Wattepfropfen verschlossen, an zwei aufeinanderfolgenden Tagen im Dampftopf sterilisiert und dann aus einer zwei Tage alten, in verdünnter Bierwürze gezüchteten Kultur von Penicillium glaucum mittels Platinöse geimpft. Die eine Hälfte der Röhrchen wurde sodann unter Vermeidung direkten Sonnenlichtes in möglichst helles, diffuses Tageslicht gebracht; die andere Hälfte der Röhrchen wurde an demselben Platze unter einem schwarzen Papiercylinder aufgestellt, so dass sie, vom Lichte abgeschlossen, in gleicher Wärme gehalten wurde wie die zu belichtenden Röhrchen. Nach 2 Tagen nun ergab sich folgender Befund: In allen Lösungen war Wachstum aufgetreten, am meisten in den Kon-

trollflüssigkeiten, gleichviel in hell und dunkel; fast ebensoviel in den unbelichteten Lösungen von Methylenblau, Dichloranthracen und Eosin, etwas weniger in Acridin, Erythrosin und Phenosafranin, am wenigsten in Rose bengale, wo eine kaum linsengrosse Flocke am Boden des Gläschens sass. Im Hellen war in Methylenblau und Dichloranthracen beträchtliches Wachstum aufgetreten, wenn auch nicht ganz so reichlich wie in den entsprechenden unbelichteten Lösungen, weniger war in Acridin und Eosin gewachsen, dann folgte Erythrosin, Phenosafranin und zuletzt Rose bengale. In den beiden letztgenannten Flüssigkeiten waren nur mehr sehr kleine Flocken zu sehen.

Die Kulturen wurden unter den gleichen Bedingungen wie bisher weitere 8 Tage beobachtet, und am Ende dieser Zeit hatte sich das Bild folgendermassen gestaltet: Vor allem fiel in die Augen, dass in den belichteten Röhrchen, mit Ausnahme der Kontrolle, die Kolonien sich durchweg nur in der Tiefe befanden, während in der belichteten Kontrolle und in den unbelichteten Röhrchen, mit Ausnahme von Rose bengale, die ganze Flüssigkeitssäule mehr oder weniger dicht durchwachsen war. Diese Erscheinung kann wegen des Verhaltens der belichteten Kontrolle nicht als blosse Lichtwirkung aufgefasst werden, sondern wird dadurch zu erklären sein, dass in den oberen Flüssigkeitsschichten der atmosphärische Sauerstoff leichten Zutritt hat und somit die photodynamische Wirkung kräftiger einzusetzen vermag als in der Tiefe.

Was die einzelnen Substanzen betrifft, so war

im Hellen bei Methylenblau und Dichloranthracen fast gleich starkes Wachstum erfolgt wie in der Kontrolle und in den entsprechenden unbelichteten Lösungen; merklich weniger war in Acridin und Eosin gewachsen; in Erythrosin war nur noch ein Teil der Kuppe mit einer klumpigen Masse ausgefüllt, und in Rose bengale und Phenosafranin war seit dem zweiten Tage überhaupt keine Vermehrung mehr vor sich gegangen, im Gegenteil eine gewisse Schrumpfung eingetreten, so dass jetzt nur noch kleinste, kompakte Klümpchen vorhanden waren; ganz ebenso verhielt sich die unbelichtete Rose bengale. In allen übrigen unbelichteten Röhrchen war das Wachstum gleichmässig reichlich, in ihnen, sowie in den fünf erstgenannten belichteten hatten die Kolonien ein zartes, durchsichtiges Gefüge.

Am 10. Tage wurde eine Ueberimpfung auf 10%ige Bierwürzegelatine vorgenommen und die geimpften Röhrchen bei Zimmertemperatur im Dunkeln gehalten, um bei etwa anhaftendem Farbstoff jede photodynamische Wirkung auszuschalten. Das Resultat war jedoch vollständig negativ; denn nirgends, auch nicht von den Kontrollflüssigkeiten aus, trat Vermehrung der übertragenen Keime ein. Da sich jedoch die Pilze in den meisten Lösungen bisher zusehends vermehrt hatten, so konnte von einer stattgehabten allgemeinen Abtötung nicht die Rede sein, infolgedessen ein anderer Nährboden gewählt wurde in Form von unverdünnter Bierwürze, worin denn auch ein Ergebnis erzielt wurde, das dem Verhalten der Pilze in den fluorescierenden Lösungen ganz entsprach.

Von den belichteten Röhrchen aus fand Wachstum statt aus der Kontrolle, aus Methylenblau, Acridin, Dichloranthr. und Eosin; Abtötung war erfolgt in Erythrosin, Phenosafranin und Rose bengale. Von den unbelichteten Flüssigkeiten aus wurde nur bei Rose bengale kein Wachstum erzielt; sonst trat überall üppiges Gedeihen der übergeimpften Keime ein.

Dieses Resultat gestattet folgenden Schluss: Tötung durch Giftwirkung, da der Erfolg in hell und dunkel der gleiche war, erfolgte durch Rose bengale; Tötung durch Photodynamie, weil nur im Hellen eingetreten, zeigte sich bei Erythrosin und Phenosafranin. Methylenblau, Acridin, Eosin und Dichloranthracen hatten keine sichtbare Schädigung verursacht, weder im Dunkeln, noch im Hellen.

Rose bengale musste nun noch auf seine photodynamische Wirkung in einer solchen Verdünnung untersucht werden, in welcher keine Giftwirkung mehr zu Tage tritt; dies ist in einer späteren Versuchsanordnung geschehen.

Zweite Versuchsreihe.

Die fluorescierenden Substanzen wurden weiterhin in zehnfach vermehrter Konzentration auf ihre photodynamische Wirksamkeit gegenüber Penicillium glaucum untersucht. Der Versuch wurde ganz dem ersten entsprechend angestellt. In allen Lösungen erfolge Wachstum, und nach einer Woche hatten die Pilzkolonien folgendes Aussehen:

	hell	dunkel
Rose bengale	sehr wenig, klumpig	sehr wenig, klumpig
Methylenblau	do.	mässig reichlich klumpig
Eosin	do.	do.
Erythrosin	wenig, klumpig	wenig, klumpig
Phenosafranin	reichlich, durchsichtig	reichlich, durchsichtig
Dichloranthr.	do.	do.

In den belichteten Röhrchen waren die oberen Partien der Flüssigkeit wiederum frei von Keimen.

Nach Ueberimpfung in Bierwürze blieb bei Rose bengale hell und dunkel das Wachstum ganz aus; bei Erythrosin hell und dunkel stellte es sich erst nach 4—5 Tagen ein, so dass im ersteren Falle Tötung, im letzteren Abschwächung durch Giftwirkung anzunehmen ist. Durch die übrigen Substanzen waren die Pilze nicht wesentlich geschädigt worden; denn schon nach 2 Tagen hatten sie sich in der Bierwürze reichlich vermehrt. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass auch durch Methylenblau und Eosin bei längerer Einwirkung Schädigung bezw. Abtötung durch Photodynamie bewirkt werden kann, da das Wachstum der Pilze im Hellen viel geringer war als im Dunkeln.

Dritte Versuchsreihe.

Die Substanzen wurden in 10fach vermin derter Konzentration angewandt. Ueberall erfolgte Vermehrung: in Rose bengale und Erythrosin hell sassen die Kolonien ein wenig zusammen-

geballt am Boden des Röhrchens, in Eosin und Dichloranthr. hatten sie ein zarteres Aussehen und waren reichlicher gewachsen; in Methylenblau und Phenosafranin war sogar hier im Hellen die ganze Flüssigkeitssäule bis zur Oberfläche mit Pilzen durchwachsen, so dass von einer photodynamischen Wirkung nicht mehr gesprochen werden kann. Im Dunkeln war das Wachstum überall gleich stark und durchsetzte die ganze Flüssigkeit. Die nach einer Woche vorgenommene Ueberimpfung in Bierwürze zeigte, dass die belichtete Rose bengale-Lösung die einzige war, in welcher die Pilze getötet wurden, alle übrigen Stoffe erwiesen sich als wirkungslos.

Aus der Vergleichung der Resultate in den 3 verschiedenen Verdünnungen geht hervor, dass es für das Zustandekommen der photodynamischen Wirkung ein Optimum der Konzentration gibt: in zu stark konzentrierten Lösungen wird eben der grösste Teil des Lichts schon in den äussersten Schichten absorbiert, so dass gerade die wirksamen Strahlen nicht in die Tiefe gelangen; in sehr verdünnten Lösungen dagegen genügt die geringe Absorption nicht mehr, um die Wirkung herbeizuführen.

Die mikroskopische Untersuchung ergab, dass in den starken Konzentrationen von Rose bengale hell und dunkel, sowie Erythrosin hell die Mycelien intensiv gefärbt und zum grössten Teil in eine detritusartige Masse zerfallen waren; in den übrigen stark konzentrierten Lösungen waren die Mycelien intakt geblieben, und in einem Gesichtsfelde wechselten gefärbte und

ungefärbte miteinander ab. Auffallend wenig Farbe war in die Pilze aus der Methylenblaulösung eingedrungen. Aehnlich war das Bild in den mittleren Konzentrationen: gefärbte und ungefärbte Pilzfäden nebeneinander; nur Methylenblau hatte keine Färbung bewirkt. Es ist anzunehmen, dass der Farbstoff von den Zellen reduziert wurde. In den schwachen Konzentrationen waren nur wenige Fäden durch Rose bengale und Erythrosin gefärbt worden.

Vierte Versuchsreihe.

Die oben erwähnte Erscheinung, dass in den belichteten fluorescierenden Flüssigkeiten die Keime nur in der Tiefe sich entwickelt hatten, und der vermutete Zusammenhang mit der Einwirkung des Sauerstoffs gaben Veranlassung, eine andere Versuchsanordnung zu wählen, bei welcher der Sauerstoff mit allen Teilen der Flüssigkeit gleichmässig in Berührung kommen konnte. Dies wurde dadurch erreicht, dass die Röhrchen an einer durch einen Wassermotor in Rotation versetzten Scheibe befestigt wurden. Diese Scheibe hatte einen Durchmesser von 45 cm und machte in der Minute ca. 40 Umdrehungen; an der Peripherie waren in geeigneten Abständen ca. 8 cm lange, starke Drähte angebracht, welche an ihrem freien Ende in einen Ring ausliefen. Je zwei dieser Ringe dienten dazu, ein Reagenzrohr aufzunehmen, so dass also das Licht von allen Seiten freien Zutritt zu der Flüssigkeit hatte. Die ca. 15 cm langen und 12 mm weiten Röhrchen wurden nun in der beim ersten Versuche beschriebenen Weise vorbereitet; dann wurden sie steril ver-

korkt und mit Watte umschlossen, die nicht zu belichtenden mit einer schwarzen Papierhülse überzogen, an der rotierenden Scheibe angebracht. Nach 2 Tagen nun waren in allen unbelichteten Lösungen, mit Ausnahme der Rose bengale, in welcher nichts aufgegangen war, zahlreiche Flocken aufgetreten, überall in etwa gleicher Menge. Annähernd ebensoviele Flocken waren im Hellen in der Kontrolle und Dichloranthr. zu sehen; die übrigen belichteten Röhrchen enthielten klare, ungetrübte Flüssigkeit. Nachdem die anfänglich sehr gute Belichtung bedeutend abgenommen hatte, waren am dritten Tage auch in Methylenblau und Eosin eine Anzahl von Flocken aufgetreten. In den folgenden Tagen fand nur allgemeine Vermehrung der aufgegangenen Keime statt; dagegen blieben Rose bengale hell und dunkel, sowie Erythrosin und Phenosafranin hell dauernd steril. Die Frage, ob es sich hiebei um Tötung oder nur Hemmung handelte, entschied die Ueberimpfung in Bierwürze. Das Ausbleiben jeglichen Wachstums zeigte, dass Tötung stattgefunden hatte.

Durch diesen Versuch wurde das Rusultat des ersten im wesentlichen bestätigt; zugleich aber liess sich erkennen, dass Methylenblau und Eosin bei genügender Helligkeit eine, wenn auch nicht sehr starke photodynamische Wirkung auf Penicillium auszuüben vermögen. Im übrigen scheint beim Schüttelverfahren die Photodynamie rascher und kräftiger einzusetzen als bei gewöhnlicher Exposition.

II. **Achorion Schönleinii.**

Der Versuch wurde mit denselben fluorescierenden Substanzen wie bei Penicillium, der mittleren Konzentration entsprechend, angestellt. Zuerst wurden die Substanzen in physiologische Kochsalzlösung gegeben, sterilisiert und aus einer Aufschwemmung von Pilzen in Kochsalzlösung geimpft. Nachdem die Pilze 3 Tage lang in hell und dunkel ausgesetzt waren, erfolgte Ueberimpfung in Bierwürze und auf Fleischwasseragar; jedoch blieben die bei Körpertemperatur gehaltenen Nährböden ohne Ausnahme steril. Ein Kontrollversuch, bei welchem von der Agar-Stammkultur übergeimpft wurde, zeigte, dass die Pilze auf den verwendeten Nährböden sehr wohl gediehen, und so musste angenommen werden, dass die Keime in der Kochsalzlösung die notwendigen Lebensbedingungen nicht gefunden hatten und zugrunde gegangen waren.

Ein zweiter Versuch wurde deshalb in verdünnter Bierwürze am Schüttelapparat ausgeführt, und zwar wurden nicht wie bei Penicillium 10 ccm, sondern nur 5 pro Gläschen genommen, um in den verkorkten Röhrchen noch mehr Sauerstoff zu haben. Die Menge der beizufügenden fluorescierenden Stoffe wurde dementsprechend auf die Hälfte reduziert. Um jeweils sicher eine genügende Anzahl von Keimen zu erhalten, wurde immer eine Flocke aus der Stammkultur übertragen. Nach 4tägiger Exposition wurde in der Art übergeimpft, dass die Flocke, von welcher aus in der relativ niedrigen Temperatur keine sichtbare Ver-

mehrung ausgegangen war, zuerst in Bierwürze getaucht und damit zugleich von dem anhaftenden Farbstoff möglichst befreit wurde; dann wurde die Flocke auf Agar übertragen. Die geimpften Nährböden wurden nun in Körpertemperatur gehalten, und das Wachstum der übertragenen Keime auf Agar ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

	Nach 1 Tag	Nach 2 Tagen	Nach 3 und folg. Tagen
Kontrolle hell	+	+	+
Kontrolle dunkel	+	+	+
Dichloranthr. hell	+	+	+
Dichloranthr. dunkel	+	+	+
Methylenblau hell	–	–	+
Methylenblau dunkel	+	+	+
Acridin hell	–	–	+
Acridin dunkel	+	+	+
Rose bengale hell	–	–	–
Rose bengale dunkel	–	–	+
Eosin hell	–	–	–
Eosin dunkel	+	+	+
Erythrosin hell	–	–	–
Erythrosin dunkel	+	+	+
Phenosafranin hell	–	–	–
Phenosafranin dunkel	+	+	+

Getötet waren also die Keime in Eosin, Erythrosin, Phenosafranin und Rose bengale hell; Entwicklungshemmung hatten verursacht Methylenblau und Acridin hell und Rose bengale dunkel. Dichloranthracendisulfosäure hatte völlig versagt.

Da die Pilze mit Ausnahme der Belichtung unter sonst gleichen Bedingungen standen, so ist ihre Tötung bezw. Schädigung im Hellen auf Photodynamie zurückzuführen; bei Rose bengale dunkel liegt Giftwirkung vor.

Die Färbung der Pilze konnte, weil immer nur eine einzige Flocke zur Verfügung stand, nicht mikroskopisch untersucht werden.

Achorion Schönleinii zeigte sich gegen photodynamische Stoffe empfindlicher als Penicillium glaucum: Eosin hatte getötet, Methylenblau und Acridin beträchtlich geschwächt, trotzdem die Beleuchtung während des Versuchs grösstenteils trübe war. Mit dem bei Bakterien erzielten Resultate stimmt das vorliegende im allgemeinen überein; nur Methylenblau hatte dort relativ stark, hier dagegen nur schwach gewirkt, was wohl dadurch zu erklären ist, dass die Substanz durch Reduktion in der Bierwürze an Wirksamkeit einbüsste.

Ein therapeutischer Versuch mit einer der stark wirkenden Substanzen bei Favus liesse positive Erfolge erwarten, und es wäre interessant, wenn gegebenen Falles diesbezügliche Untersuchungen angestellt würden.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor v. Tappeiner für die Ueberlassung der Arbeit und Uebernahme des Referats, sowie Herrn Privatdozent Dr. Jodlbauer für seine freundlichen Ratschläge, mit denen er mich jederzeit unterstützte, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literaturangabe.

Raab, Zeitschrift für Biologie Bd. 39.
Jakobson, Zeitschrift für Biologie Bd. 41.
v. Tappeiner, Münchn. med. Wochenschr. 1904. Nr. 16.
v. Tappeiner u. Jesionek, Münchn. med. Wochenschr. 1903. Nr. 47.
v. Tappeiner u. Jodlbauer, Münchn. med. Wochenschr. 1904. Nr. 17.
— — 1904. Nr. 25.
— — 1904. Nr. 26.
— Archiv für klin. Medizin 1904. Bd. 30.
Straub, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 1904. Bd. 51.
Ledoux u. Lebard, Annales de l'Institut Pasteur T. 16. 1902.
Edlefsen, Münchn. med. Wochenschr. 1904. Nr. 36.
Lichtwitz, Münchn. med. Wochenschr. 1904. Nr. 36.
Sacharoff u. Sachs, Münchn. med. Wochenschr. 1905. Nr. 7.
Pfeiffer, Wiener med. Wochenschr. 1905. Nr. 9.
Neisser, Deutsche med. Wochenschr. 30. 266.

Lebenslauf.

Geboren am 9. Januar 1881 als Sohn des Kaufmanns J. Essinger in Heilbronn, besuchte ich von Herbst 1887 bis Herbst 1899 die Elementarschule und das Karlsgymnasium in Heilbronn, diente daselbst im Winterhalbjahr 1899/1900 als Einjähr.-Freiwilliger beim IV. Württ. Inf. Reg. und widmete mich hierauf dem Studium der Medizin. Ich verbrachte 2 Semester in Strassburg, sodann 2 in Heidelberg, woselbst ich die ärztliche Vorprüfung ablegte. Hierauf studierte ich ein Semester in München, das nächste in Berlin und die 3 letzten wieder in München, wo ich am 28. Januar 1905 die ärztliche Approbation erhielt.